

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problems Mailbox.**

## Purifying beta-sitosterol from cellulose process soap - by dissolving in organic solvent then pptn. by cooling

Patent Number : **DE3226225**

*International patents classification : C07J-009/00*

**• Abstract :**

DE3226225 A Method for recovering beta-sitosterol (I) contg. less than 5% alpha-sitosterol (II) comprises treating a steroid material (derived from the neutral fraction of crude soap from the sulphate cellulose process) with a mixt. of organic solvent (A) and over 2% water (on (A)) at sterol mixt.:solvent wt. ratio 1:3-20, pref. 1:7-10. The mixt. is warmed until completely dissolved then cooled to room temp. or below to ppte. a (I)-enriched prod. Specifically (A) is 1,2-dichloroethylene, 2-butanone or ethyl acetate, opt. mixed with aliphatic or aromatic hydrocarbons.

(I) is useful as a pharmaceutical and as a starting material for steroid synthesis. This process gives pharmaceutical grade material without the difficulties associated with using multi-component solvent mixts.

DE3226225 C Method for recovering beta-sitosterol (I) contg. less than 5% alpha-sitosterol (II) comprises treating a steroid material (derived from the neutral fraction of crude soap from the sulphate cellulose process) with a mixt. of organic solvent (A) and over 2% water (on (A)) at sterol mixt.:solvent wt. ratio 1:3-20, pref. 1:7-10. The mixt. is warmed until completely dissolved then cooled to room temp. or below to ppte. a (I)-enriched prod. Specifically (A) is 1,2-dichloroethylene, 2-butanone or ethyl acetate, opt. mixed with aliphatic or aromatic hydrocarbons.

(I) is useful as a pharmaceutical and as a starting material for steroid synthesis. This process gives pharmaceutical grade material without the difficulties associated with using multi-component solvent mixts. (7pp)

US4422974 A Beta-sitosterol (I) contg. less than 5% alpha-sitosterol (II), is isolated from a sterol mixt. (III) isolated from the unsaponifiables in crude soap derived from the sulphate cellulose process (a) to (III) is added water and 1,2-dichloroethylene, methylethyl ketone or ethyl acetate, the wt. ratio of (III) to organic solvent (IV) being about 1:3 to about 1:20 and the amt. of water being more than 2% of (IV), (b) heating the admixture from (a) until (III) is dissolved; (c) pptg. a prod. (V) rich in (I) by cooling the admixture to at least room temp., and (d) sepg. (V) from the soln. by filtration.

(I) contg. less than 5% (II) and less than 1% betulin (VI) is isolated from a sterol mixt. (VII) isolated from the neutral substance in a crude soap contg. 1-20% (VII); (a) to (VII) is added methyl ethyl ketone (VIII) and water, the wt. ratio of (VII) to (VIII) being about 1:3 to about 1:20 and the amt. of water being above 2% of (VIII), (b) heating the mixt. (IX) from (a) until (VII) is dissolved; (c) pptg. a prod. (X) rich in (I) by cooling (IX) to at least room temp.; and (d) sepg. (X) from the soln. by filtration.

(I) is useful as raw material for steroid intermediates or as such for pharmaceutical purposes. (3pp)

**• Publication data :**

Patent Family : DE3226225 A 19830210 DW1983-07 7p \*  
 FR2510118 A 19830128 DW1983-10  
 SE8204273 A 19830221 DW1983-10

JP58024599 A 19830214 DW1983-12 AP: 1982JP-0126632  
 19820720

FI8102279 A 19830331 DW1983-19

US4422974 A 19831227 DW1984-03 AP: 1982US-0396335  
 19820708

DD-202724 A 19830928 DW1984-05

CA1184896 A 19850402 DW1985-18

SE-456243 B 19880919 DW1988-40

JP90007320 B 19900216 DW1990-11

DE3226225 C2 19930603 DW1993-22 C07J-009/00 3p AP:

1982DE-3226225 19820714

Priority n° : 1981FI-0002279 19810721

Covered countries : 8

Publications count : 11

**• Patentee & Inventor(s) :**

Patent assignee : (KAUK-) KAUkas OY AB  
Inventor(s) : HAMUNEN A

**• Accession codes :**

Accession N° : 1983-15103K [07]  
Sec. Acc. n° CPI : C1983-014680

**• Derwent codes :**

Manual code : CPI: B01-D02 D08-B E01  
Derwent Classes : B01 D21 E15

**• Update codes :**

Basic update code : 1983-07  
Equiv. update code : 1983-10; 1983-12;  
 1983-19; 1984-03; 1984-05; 1985-18; 1988-  
 40; 1990-11; 1993-22

⑯ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

# Offenlegungsschrift

⑯ DE 3226225 A1

Int. Cl. 3:

C07J 9/00

⑯ Unionspriorität: ⑯ ⑯ ⑯

21.07.81 FI 812279

⑯ Erfinder:

Hamunen, Antti, 53200 Lappeenranta, FI

⑯ Anmelder:

Osakeyhtiö Kaukas AB, 53200 Lappeenranta, FI

⑯ Vertreter:

Beil, W., Dipl.-Chem. Dr.jur.; Wolff, H., Dipl.-Chem. Dr.jur.;  
Beil, H., Dr.jur., Rechtsanw., 6230 Frankfurt

DE 3226225 A1

## ⑯ Verfahren zur Reinigung eines aus dem Neutralstoff der Rohseife des Sulfatzellstoffprozesses isolierten β-Sitosterols

Die Erfindung bezieht sich auf die Herstellung eines, weniger als 5% α-Sitosterol enthaltenden β-Sitosterols aus einer, aus dem Neutralstoff der Rohseife des Sulfatzellstoffprozesses isolierten Sterolmischung. Die Erfindung basiert auf der Kristallisation der Sterolmischung aus einer Mischung von einem organischen Lösungsmittel und Wasser, vorzugsweise 1,2-Dichloräthylen oder Methyläthylketon und Wasser. Mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens wird aus 20 bis 25% α-Sitosterol enthaltenden Ausgangsstoffen ein unter 5% α-Sitosterol enthaltendes Produkt erhalten, welches bei Bedarf mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens zwecks Gewinnung eines, weniger als 1% α-Sitosterol enthaltenden β-Sitosterols erneut behandelt werden kann. Wenn als organisches Lösungsmittel Methyläthylketon verwendet wird, wird das β-Sitosterol auch von dem im Ausgangsmaterial eventuell befindlichen Betulin gereinigt. (32 26 225)

DE 3226225 A1

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Isolierung eines, weniger als 5 %  $\alpha$ -Sitosterol enthaltenden  $\beta$ -Sitosteroles aus einer, aus dem Neutralstoff der Rohseife des Sulfatzellstoffprozesses isolierten Sterolmischung, dadurch gekennzeichnet, dass

a) der Sterolmischung eine Mischung aus einem organischen Lösungsmittel und Wasser zugesetzt wird, wobei das organische Lösungsmittel vorzugsweise 1,2-Dichloräthylen oder Methyläthylketon oder deren Mischung mit einem aliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffes ist, so dass das Gewichtsverhältnis der Sterolmischung zum organischen Lösungsmittel 1:3 - 1:20, vorzugsweise 1:7 - 1:10 und die Menge an Wasser grösser als 2 %, auf die Menge des organischen Lösungsmittels gerechnet, ist,

b) die erhaltene Mischung bis die Sterolmischung aufgelöst ist, aufgewärmt wird,

c) das  $\beta$ -sitosterolreiche Produkt durch Abkühlung der Mischung auf oder unter die Zimmertemperatur ausgefällt wird, und

d) das ausgefällte  $\beta$ -sitosterolreiche Produkt durch Filterung aus der Mutterlauge isoliert wird.

2. Verfahren gemäss Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das erwähnte organische Lösungsmittel Äthylazetat oder dessen Mischung mit einem aliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoff ist.

3. Verfahren zur Isolierung eines, weniger als 5 %  $\alpha$ -Sitosterol enthaltenden  $\beta$ -Sitosteroles aus einer, aus dem Neutralstoff der Rohseife isolierten Sterolmischung, welche 1 bis 20 % Betulin enthält, dadurch gekennzeichnet, dass

a) der Sterolmischung eine Mischung von Methyläthylketon und Wasser so zugesetzt wird, dass das Gewichtsverhältnis der Sterolmischung zum Methyläthylketon 1:3 - 1:20, vorzugsweise 1:7 - 1:10, und die Menge an

Wasser, auf die Menge des organischen Lösungsmittels gerechnet, grösser als 2 % ist,

- b) die erhaltene Mischung bis die Sterolmischung aufgelöst ist, aufgewärmt wird,
- c) das  $\beta$ -sitosterolreiche Produkt durch Abkühlung der Mischung auf oder unter die Zimmertemperatur ausgefällt wird, und
- d) das ausgefällte  $\beta$ -sitosterolreiche Produkt durch Filterung aus der Mutterlauge isoliert wird.

**Verfahren zur Reinigung eines aus dem Neutralstoff der Rohseife des Sulfatzellstoffprozesses isolierten  $\beta$ -Sitosteroles**

Die Erfindung bezieht sich auf die Isolierung von einem, weniger als 5 %  $\alpha$ -Sitosterol enthaltenden  $\beta$ -Sitosterol aus der, aus dem Neutralstoff der Rohseife des Sulfatzellstoffprozesses isolierten Sterolmischung.

Das  $\beta$ -Sitosterol ist eine Verbindung, welche in der Arzneimittelindustrie als Rohmaterial für Steroidzwischenprodukte oder auch an sich für pharmazeutische Zwecke benutzt werden kann.

Natürliche  $\beta$ -Sitosterolquellen sind verschiedene, aus vegetabilischen Materialien isolierte unverseifbare Fraktionen, z.B. die unverseifbare Substanz der vegetabilischen Öle oder des Zuckerrohröles oder der aus dem Sulfatzellstoffprozess erhältliche Neutralstoff der Rohseife. Aus diesen Quellen isolierte Sterolprodukte enthalten jedoch oft als Verunreinigungen unerwünschte Verbindungen, und erfüllen somit nicht die von der Arzneimittelindustrie an das  $\beta$ -Sitosterol gestellten ziemlich strengen Qualitätsbedingungen.

Mittels des erfindungsgemässen Verfahrens kann ein  $\beta$ -Sitosterol hergestellt werden, dessen Gehalt an Verunreinigungen, besonders die Menge an  $\alpha$ -Sitosterol sehr niedrig ist. Das Ausgangsmaterial im erfindungsgemässen Verfahren ist eine, aus einer, aus der Rohseife des sowohl Nadelholz als Laubholz, besonders Birke als Rohmaterial benutzenden Zellstoffprozesses extrahierten unverseifbaren Fraktion, einem s.g. Neutralstoff isolierte Sterolmischung, welche Mischung typisch 65 bis 70 %  $\beta$ -Sitosterol, 5 % Campesterol und 15 bis 25 %  $\alpha$ -Sitosterol enthält. Die Sterolmischung kann ausserdem 0 bis 10 % Betulin enthalten.

Es gibt einige Verfahren zur Reinigung von aus dem Neutralstoff der Sulfatseife isoliertem Sitosterol.

Die FI-PS 57 956 behandelt eine  $\alpha$ -sitosterolhaltige Sterolmischung mit einer starken Säure, wonach das  $\beta$ -Sitosterol möglichst rein von organischen Lösungsmitteln kristallisiert werden kann. Der Nachteil dieses Verfahrens ist, dass das  $\alpha$ -Sitosterol, welches für andere als medizinische Zwecke verwendbar ist, z.B. in der Kosmetikindustrie, abgebaut wird.

Die FI-PS 58 333 beschreibt ein Verfahren, in dem das  $\alpha$ -Sitosterol aus  $\beta$ -Sitosterolkonzentraten durch Behandlung des Konzentrates mit einer Lösungsmittelmischung, entfernt wird, welche Mischung aromatische und/oder aliphatische Kohlenwasserstoffe und Ester und ferner eventuell geringe Mengen an Ketonen, Alkoholen, organischen Säuren und Wasser enthält.

In der FI-AS 59 416 wird das  $\beta$ -Sitosterol aus einer Xylole, Toluol oder Mesithylen zusammen mit Hexan oder Heptan, Methanol, Äthanol, Azeton oder Methylenechlorid und Wasser enthaltenden Lösungsmittelmischung kristallisiert.

Der Nachteil der zwei letzterwähnten Verfahren ist die grosse Anzahl der Lösungsmittelkomponenten, was bei industrieller Ausführung zu grossen Schwierigkeiten bei der Lösungsmittelregeneration und Stabilisation der Lösungsmittelkonsistenz führt. Ausserdem - besonders aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen enthaltenden Lösungsmitteln - wird das Betulin, welches

die Ausgangssterolmischung eventuell enthält, zusammen mit dem  $\beta$ -Sitosterol konzentriert. Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die- se Nachteile herabzusetzen.

Folgendes Verfahren ist für die Erfindung kennzeichnend: Die als Ausgangsmaterial benutzte  $\alpha$ -sitosterolhaltige Sterolmischung wird unter einem Aufwärmen in / geeigneten Lösungsmittel aufgelöst, welches Mittel Methylketon, 1,2-Dichloräthylen oder Äthylazetat oder eine Mischung von diesen mit einem aliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffes ist, eine Menge an Wasser wird zugesetzt, welche Menge  $> 2\%$  der Lösungsmittelmenge ist, und das gereinigte Sitosterol wird durch Abkühlung der Mischung auf oder unter die Zimmertemperatur unter gleichzeitiger Umrührung ausgefällt. Alternativ kann das Wasser der Mischung bereits im Lösungsschritt zugesetzt werden.

Für das obenerwähnte Reinigungsverfahren sind somit eine grosse Zahl von Lösungsmitteln und Lösungsmittelmischungen geeignet. Generell kann behauptet werden, dass ein Lösungsmittel/eine Lösungsmittelmischung im obenerwähnten Verfahren als organisches Lösungsmittel, in welchem das Wasser begrenzt aufgelöst wird, wirken kann. Wenn ein einfaches Reinigungsverfahren angestrebt wird, ist es jedoch vorzuziehen, anstatt einer Lösungsmittelmischung, ein einziges Lösungsmittel zu verwenden. Besonders Methyläthylketon und Äthylendichlorid haben sich als effektiv erwiesen. Bei der Verwendung von Methyläthylketon bleibt das Betulin, welches eventuell in der Ausgangssterolmischung vorliegt, in der Mutterlauge.

Die in der folgenden Tabelle erwähnten Beispiele beschreiben die Erfindung mehr eingehend.

Die Versuche der Tabelle sind in folgender Weise ausgeführt worden: 10 g Sterolmischung wurde unter Aufwärmen in einer Mischung aus einem organischen Lösungsmittel und Wasser aufgelöst, die Mischung wurde auf 20°C unter kontinuierlicher Umrührung abgekühlt; wonach das Sitosterol filtriert wurde. In den Versuchen 8 bis 11 wurde das Wasser erst nach der Auflösung des Sitosterols in dem organischen Lösungsmittel zugesetzt.

Tabelle

Versuch	Verunreinigungen im Ausgangsstoff	Organisches Lösungsmittel	Lösungsmittel	Wasser	Sitosterol - Verunreinigungen im Produkt
	$\alpha$ -Sitosterol	Betulin	ml	ml	ausbeute g
1	17	-	MEK	100	6
2	17	-	MEK	100	12
3	17	-	MEK	80	10
4	17	5	MEK	100	12
5	6	-	MEK	100	10
6	25	-	MEK	100	10
7	25	-	Xthylenc- chlorid	100	10
8	22	-	Xthylazetat	80	10
9	25	-	Hexan-MEK 85:15	100	10
10	20	-	Hexan-Äthyl- Azetat 85:15	100	10
11	22	2	" "	100	10
12	22	-	Hexan-Xylen: Äthylazetat	100	10

Durch Wiederholung des Reinigungsverfahrens mit aus der Reinigungsbehandlung erhaltenem Sterol, wird ein Produkt erhalten, dessen  $\alpha$ -Sitosterolgehalt unter 1% liegt.